

原 著

特別掲載

ヒト絨毛および脱落膜における甲状腺ホルモン代謝の研究

東京女子医科大学 産婦人科学教室 (主任: 武田佳彦教授)

安 達 知 子

(受付 昭和60年2月4日)

Thyroid Hormone Metabolism in vitro in Human Chorionic Villi and Decidua

Tomoko ADACHI

Department of Obstetrics and Gynecology (Director: Prof. Yoshihiko TAKEDA)

Tokyo Women's Medical College

Thyroid hormone metabolism in human chorionic villi and decidua at 6–11 weeks of gestation were studied.

The chorionic villi and decidua, obtained at induced abortion, were homogenized in a cold KRP buffer, pH 7.4. The homogenates were incubated with 20 mM DTT at 37°C in room air for 1 hour with outer ring labeled ^{125}I -T₄, ^{125}I -T₃ or ^{125}I -rT₃, respectively. ^{125}I -compounds generated in the reaction were separated by paper chromatography or thin layer chromatography and the radioactivity of each compounds was measured. And its production rate was expressed as a percentage of total radioactivity of the medium.

The homogenate of the chorionic villi deiodinated the inner ring of T₄ and T₃, converting these active thyroid hormone to the inactive iodothyronines, rT₃ from T₄, 3,3'-diiodothyronine and 3'-moniodothyronine from T₃ as same as placental homogenate in which thyroid hormone metabolism had already been reported. But rT₃ degradation was occurred in chorionic villi, while almost no deiodination of rT₃ in human placenta had been reported.

In decidua, the deiodination of T₄ and rT₃ were not detected but inner ring deiodination of T₃ was recognized.

These findings suggest that a placental transfer of T₄ and T₃ to the fetus could be regulated even before completion of placental organ due to deiodination of these compounds in the placenta.

緒 言

甲状腺より分泌された thyroxine (T₄)は、末梢組織において脱ヨードされ、T₄の4~5倍の強い甲状腺ホルモン作用を有する3,5,3'-triiodothyronine (T₃) 或いは、生物活性を持たない3,3',5'-triiodothyronine (rT₃) に転換される。

ヒト胎児における甲状腺ホルモン代謝は、まだ充分に解明されていないが、現在までの知見では、①臍帯血中 rT₃濃度が母体血 rT₃の3~4倍の高値を示し¹⁾、臍帯血中 T₃濃度が非常に低い²⁾³⁾こ

と、②ヒツジ胎児のモデルにおいて、T₄→T₃の代謝率が極めて低く、T₄→rT₃の代謝率が高い⁴⁾⁵⁾ことが、報告されている。以上の事実は、ヒト胎児における甲状腺ホルモン代謝は、T₄→rT₃の代謝が主流であり、胎児は Low T₃状態であることを推測させる。

胎児の甲状腺は、妊娠12週で小胞形成とコロイド蓄積がおこり、12週以降徐々にその機能を開始し⁶⁾、母体由来の T₃、T₄の関与が制限される。その結果、胎児優位の代謝系が形成され、妊娠中期以

降, ほぼ母体から独立した独自の胎児甲状腺系の活動を営むようになる. このような胎児の自律性がなぜ獲得されるか, その時期以前はどのように調節されているかはなお不明の部分が多いが, その一つに母体系甲状腺ホルモンの胎盤での代謝を考えるべきであり, 著者は, ヒトにおいてその事実を解明することを目的として放射性同位元素を用いた代謝実験を行なった. 甲状腺ホルモンの胎盤通過性が極めて低い^{7)~9)}理由として, 胎盤における $T_4 \rightarrow rT_3$, および $T_3 \rightarrow 3,3'$ -diiodothyronine (T_2) \rightarrow 3'-monoiodothyronine (T_1) への脱ヨード反応が一部の研究者¹⁰⁾¹¹⁾によりこれまでも考えられており, 胎児側甲状腺機能調節に関与する胎盤の甲状腺ホルモン代謝能の重要な意義が示唆されていた. 上記の事実をふまえると, 妊娠12週以前の妊娠初期では, 母体側甲状腺ホルモンおよびその胎盤での代謝が, 胎児側甲状腺機能調節の主役になっていると考えてよいと思われる. このような胎児-胎盤系における甲状腺ホルモンの代謝動態を明確にするため, 本実験では, 妊娠初期6~11週の *in vitro* におけるヒト絨毛 (chorionic villi) の甲状腺ホルモン代謝を検討し, すでに明らかにされているヒト胎盤での代謝^{10)~12)}と比較した. また, 絨毛と密着する脱落膜 (decidua) は, 一般に妊娠中のホルモン産生・代謝にほとんど関与しないとされてきたが, 最近, 羊水中へのプロラクチン分泌¹³⁾¹⁴⁾あるいはプロスタグランデインの生成・代謝¹⁵⁾という機能も明らかにされていることから, 絨毛と同様に, 甲状腺ホルモン代謝がおきているかどうかを検討した.

研究方法

1. 試料の調整

妊娠6~11週における人工妊娠中絶あるいは妊娠40週自然分娩によって得られたヒト絨毛(以下, 初期絨毛), 脱落膜および胎盤を直ちに生理食塩水で洗い, 氷上で細切し, 4℃の条件下で, Krebs-Ringer-phosphate (KRP) bufer (pH 7.4) を用いて25%ホモジネート(ポリトロン使用, 30秒間)を作製した.

2. 代謝動態の検討

$^{125}\text{I-T}_4$, T_3 , rT_3 とホモジネートの incubation

は Maeda ら¹⁶⁾の方法に準じた. すなわち, outer ring にラベルした tracer dose の $^{125}\text{I-T}_4$, $^{125}\text{I-T}_3$ あるいは $^{125}\text{I-rT}_3$ をホモジネートに加えて, 20mM DL-dithiothreitol (DTT) 存在下に, 37℃, 空气中で60分間の incubation を行なった. 反応の停止には等量の methanol: 2N ammonia=99: 1 を加えた. 対照群として, incubation を行なわなかったもの (O time control) と, ホモジネートの代わりに KRP buffer を用いて60分間 incubation したもの (tissue control) の2種を用いた.

また, DTT 濃度, incubation 時間の変化, pH の変化の代謝に及ぼす影響についても検討した.

3. ^{125}I -compounds の分離

methanol ammonium を加えて反応を停止したものを, ペーパークロマトグラフィ(PC)又は, 薄層クロマトグラフィ(TLC)を用いて分離した.

すなわち, WHATMAN No. 1濾紙(6×41cm)又は, SILICA GEL PLATE (20×20cm EASTMAN KODAK COMPANY) に標準サンプル (KI, monoiodotyrosine (MIT), diiodotyrosine (DIT), T_4 , T_3 の methanol-ammonia 液) と共に分配し, 下行性 PC は tertiary amylalcohol: hexane: 2N ammonia (10: 1: 11) を, 上行性 TLC は ethyl acetate: methanol: 2N ammonia (5: 2: 3) を solvent system として, それぞれ, 24~28時間, 及び2~4時間展開させ, 代謝産物を分離した. ヨードを0.1% palladium chloride にて, その他の標準サンプルを10% Na_2CO_3 と, Sulfanilic acid: Na_2NO_2 = 1: 5 液にて発色させた後, X線フィルムにて1週間感光させ, ^{125}I -compounds を autoradiography で同定し, その部分を γ -シンチレーションカウンターで測定した.

なお, 標準試薬として, L- T_4 , L- T_3 , MIT, DIT, DTT は sigma chemical Co. (ST. LOUIS, MO) のものを, $^{125}\text{I-T}_4$, $^{125}\text{I-T}_3$, $^{125}\text{I-rT}_3$ は New England Nuclear (BOSTON, MA) のものを使用した.

タンパク定量は Lowry¹⁷⁾の方法を用いて行ない, 標準として bovine serum albumin を用いた.

4. 代謝動態の定量的評価

表1 ^{125}I -Labeled metabolites after 1-h incubation of labeled iodothyronines in vitro with human chorionic villi and decidua homogenates

Tissue	(mg protein)	N	Substrate	^{125}I -Labeled metabolites (mean % total identified iodothyronines and iodide)					
				1'-or 3', 5'- T_2	3'- T_1	3,3'- T_2	r T_3	T_3	T_4
chorionic villi	(3.2±0.4) ^a	11	T_4	21.9±2.4	0	0	76.0±2.6	0	2.6±0.7
chorionic villi	(3.2±0.4)	9	T_3	0	100.3±0.5	0	—	0	—
chorionic villi	(3.2±0.4)	11	r T_3	21.0±2.3	0	0	78.6±2.6	—	—
decidua	(3.9±0.4)	7	T_4	5.0±2.4	0	0	2.6±1.0	0	89.3±4.5
decidua	(3.9±0.4)	6	T_3	0	6.8±2.0	54.0±6.1	—	36.8±7.1	—
decidua	(3.9±0.4)	7	r T_3	3.9±1.4	0	0	95.0±2.9	—	—

N: Number of incubations and chromatographic analyses.

(mean±S.E.)

a: Numbers in parentheses represent milligrams protein per incubation tube.

Incubations were carried out in KRP buffer, pH 7.4 with 20mM DTT.

各 substrates (^{125}I - T_4 , ^{125}I - T_3 , ^{125}I -r T_3) の代謝率および ^{125}I -compounds の生成率は、生成した ^{125}I -I-compounds の総放射能に対する各々の割合(%)から、前述した control 群の各々の割合(%)を差し引いて補正した値で示した。

有意差検定はANOVAおよびDUNCAN'S new multiple range test¹⁸⁾を用いた。

実験成績

I. 初期絨毛と脱落膜における T_4 , T_3 および r T_3 の脱ヨード反応

1. 初期絨毛における検討 (表1)

pH 7.4, DTT 濃度20mM, 温度37°C incubation 1時間の条件下で行なった。

1) T_4 代謝: T_4 は95%以上が代謝され, r T_3 が76.0±2.6%生成された。さらに, I- position あるいは3',5'- T_2 position に21.9±2.4%の代謝産物 (substance X とする)が認められた。しかし, T_4 から T_3 の産生はみられなかった。

2) T_3 代謝: outer ring にラベルした ^{125}I - T_3 はほぼ100%が代謝され, ペーパークロマトグラフィ上3'- T_1 の位置に強い spot を認めた。一方, I-あるいは3,3'- T_2 の位置にはほとんど spot が検出されなかった (写真1)。

3) r T_3 代謝: r T_3 は, T_4 および T_3 に比較すると, 代謝率は低く, 約21%が代謝されたにすぎなかった。代謝産物はペーパークロマトグラフィ上, I-あるいは3',5'- T_2 の position に検出され (sub-

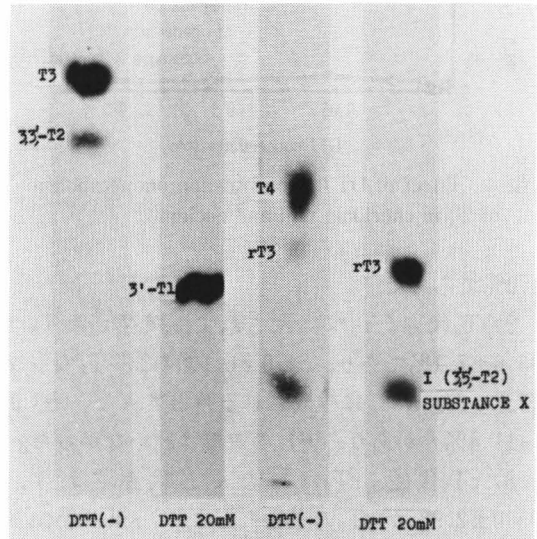


写真1 Autoradiographic paper chromatogram showing metabolites of ^{125}I - T_3 and ^{125}I - T_4 after incubation with homogenate of chorionic villi

stance X), 3,3'- T_2 の生成は認めなかった。

2. 脱落膜における検討 (表1)

1と同様の条件下で行なった。なお試料の精製について, 脱落膜の試料調製後, 捺印細胞診にて観察すると, ほとんどが脱落膜細胞として回収されており, trophoblast cell の混入はごく微量であった。

1) T_4 代謝: T_4 の代謝はわずかで, 89.3±4.5%が代謝されずに残り, r T_3 の生成はわずかに2.6±

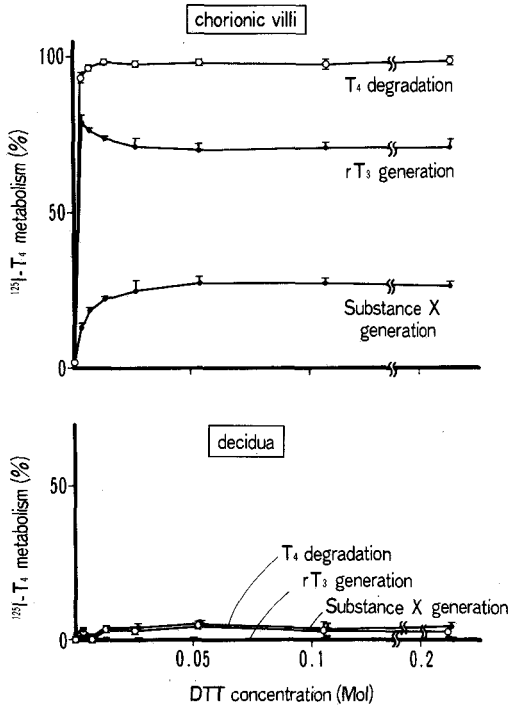


図1 Effect of DTT concentration on metabolism of T_4 in chorionic villi and decidua

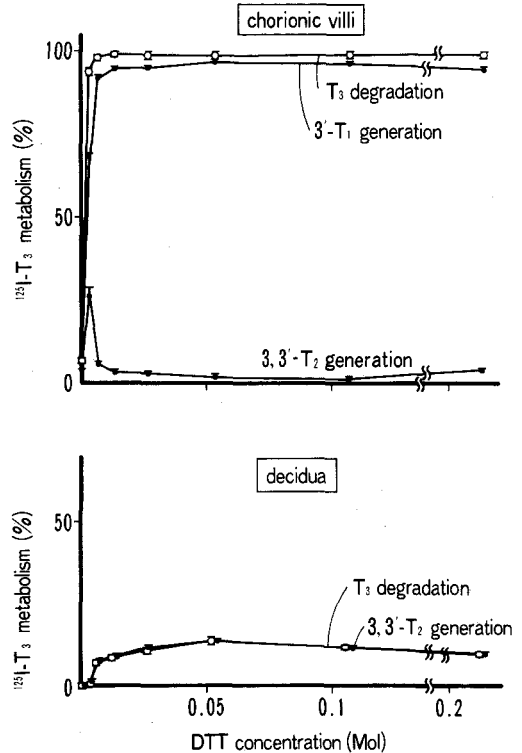


図2 Effect of DTT concentration on metabolism of T_3 in chorionic villi and decidua

1.0%であった。

2) T_3 代謝: T_3 は代謝されて、残存した T_3 は $36.8 \pm 7.1\%$ であり、 $54.0 \pm 6.1\%$ の $3,3'-T_2$ の生成を認めた。 $3'-T_1$ は生成される時とされない時(0~11.4%)があり、 ^{125}I -の遊離は認めなかった。

3) rT_3 代謝: rT_3 はほとんど代謝されず、 $95.0 \pm 2.9\%$ が rT_3 のままとなり、substance Xが $3.9 \pm 1.4\%$ 生成された。

II. 脱ヨード反応系の特異性に関する検討

1. DTT の影響

DTT 濃度変化は、0, 3.3, 6.7, 13.3, 26.7, 53.3, 106.7, 213.3mM の各系列で検討した。

1) 初期絨毛

T_4 代謝(図1)は、DTT 非添加ではほとんどみられなかったが、DTT をわずかに加えただけで(3.3mM), $T_4 \rightarrow rT_3 \rightarrow$ substance X の急激な代謝がおこり、 rT_3 の生成率はこの濃度でピークを示した。以後、DTT 濃度上昇と共に、 $rT_3 \rightarrow$ substance X の代謝が進行し、53.3mM でプラトーに達した ($p < 0.05$)。

T_3 代謝(図2)は、DTT 非添加ではわずかしみられなかったが、DTT 3.3mM 添加で、 $T_3 \rightarrow 3,3'-T_2 \rightarrow 3'-T_1$ の代謝がすみやかに起こり、この濃度で $3,3'-T_2$ 生成率はピークを示した。以後、DTT 濃度の上昇と共に、 $3'-T_1$ 生成までの脱ヨード反応が進行したが、DTT 13mM 以上では、代謝率に有意差はなかった ($p < 0.05$)。

rT_3 代謝(図3)は、DTT 非添加ではほとんどみられなかった。添加 DTT 濃度の上昇と共に、 $rT_3 \rightarrow$ substance X の代謝は進行したが、DTT 26.7mM 以上では代謝率に有意差はなかった ($p < 0.05$)。

2) 脱落膜

T_4 および rT_3 代謝は、DTT 濃度に関係なくほとんどみられなかった(図1, 3)。

DTT 濃度上昇と共に、 $T_3 \rightarrow 3,3'-T_2$ への代謝は進行したが、 $3'-T_1$ の生成は認めなかった(図2)。

2. pH の影響

Incubation 60分, DTT 20mM の条件で、pH 4

から pH 11 まで, 1.0 pH あるいは 0.5 pH 毎の段階的検討を行なった。

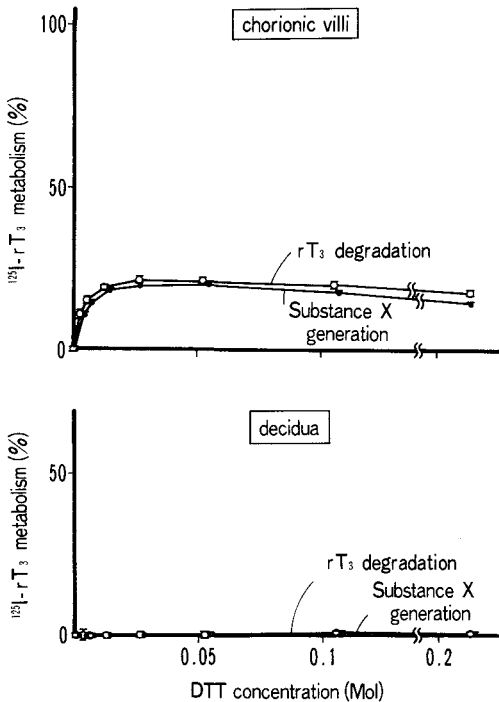


図3 Effect of DTT concentration on metabolism of rT_3 in chorionic villi and decidua

1) 初期絨毛 (図4)

T_4 代謝は pH 4.0 および pH 10.0 以上ではほとんどみられず, pH 5.0 から pH 9.0 の範囲で進行した。 $T_4 \rightarrow rT_3 \rightarrow$ substance X の代謝は pH 変化に依存しており, pH 6.0~7.5 で最もよく代謝された。

$T_3 \rightarrow 3,3'-T_2$ への代謝は pH 4.0~10.0 の間でみられるが, pH 6.0~9.0 の間で生成された $3,3'-T_2$ はさらに代謝されて減少し, pH 7.0~9.0 の間で 0% となった。この変動に対応して $3'-T_1$ が鏡像を呈して生成され, pH 7.0~9.0 では $3'-T_1$ が 100% に認められた。

$rT_3 \rightarrow$ substance X への代謝は, T_4 代謝でみられたと同様に pH に依存し, pH 6.0~7.5 で最もよく代謝された。

2) 脱落膜 (図5)

T_4 および rT_3 は, pH の変化にかかわらずほとんど代謝されなかった。

$T_3 \rightarrow 3,3'-T_2$ の代謝は, pH の変化に依存し, pH 7.0 で最もよく代謝されたが, 初期絨毛でみられた $3,3'-T_2 \rightarrow 3'-T_1$ への代謝はほとんど認められなかった。

3. Incubation 時間の影響 (図6)

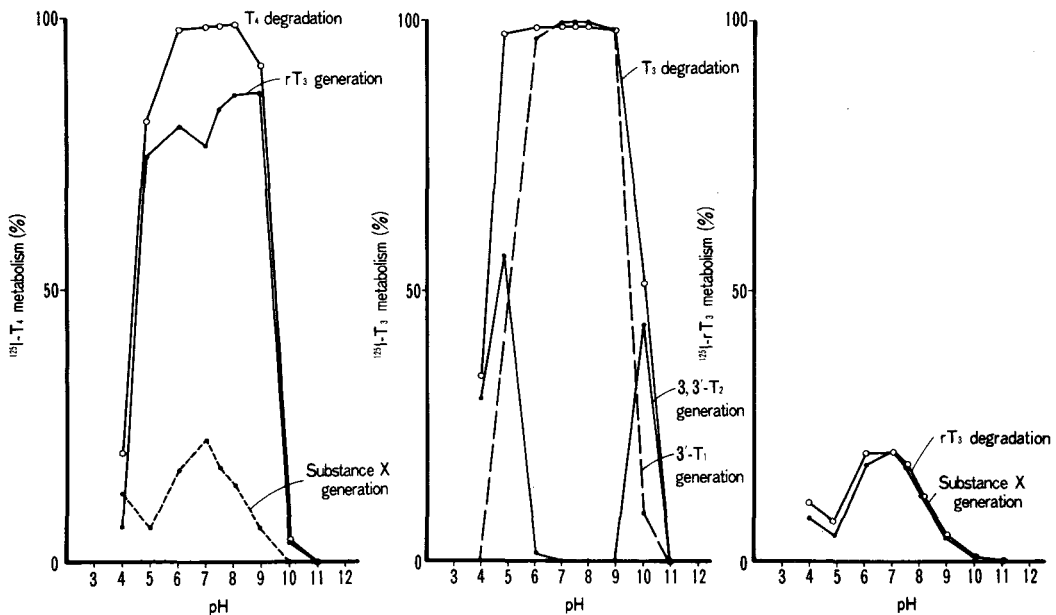


図4 Effect of pH on Metabolism of T_4 , T_3 and rT_3 in Chorionic Villi

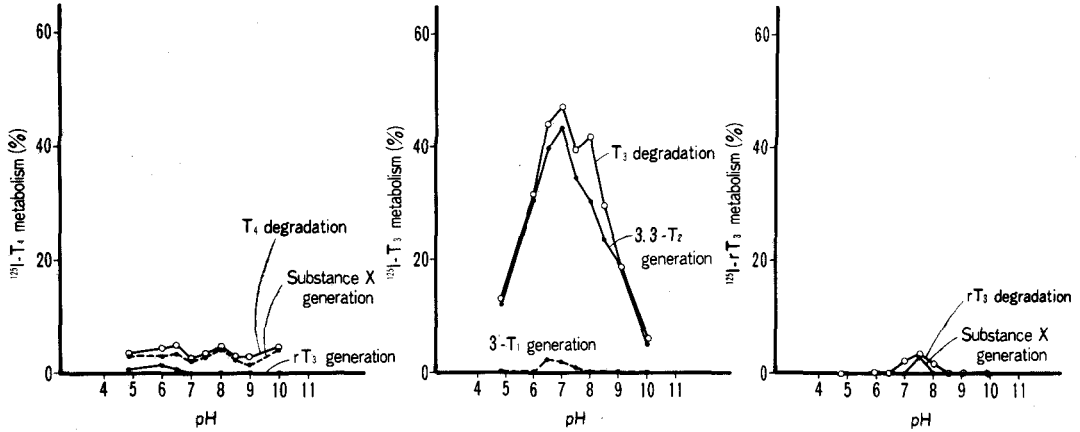


図5 Effect of pH on Metabolism of T_4 , T_3 and rT_3 in Decidua

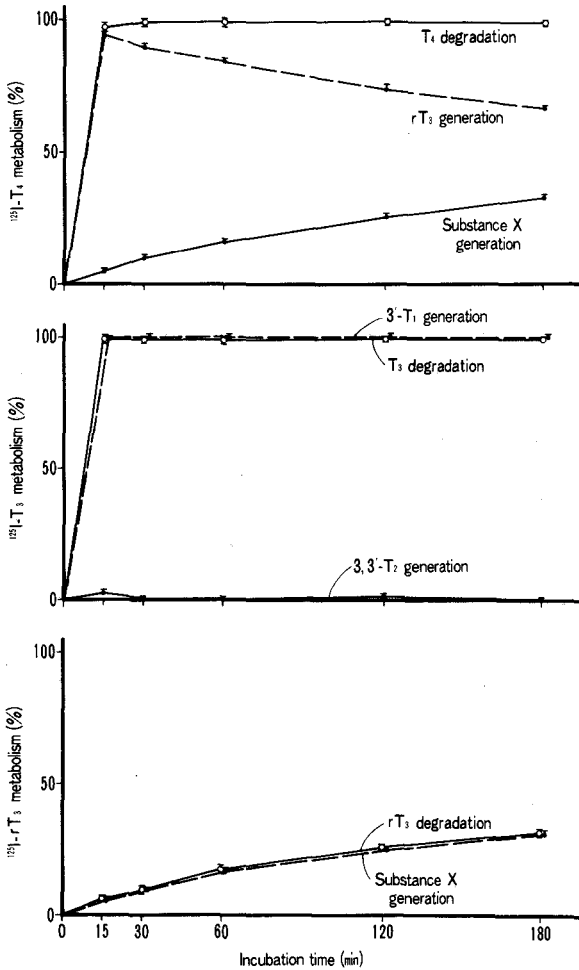


図6 Effect of incubation time on metabolism of T_4 , T_3 and rT_3 in chorionic villi

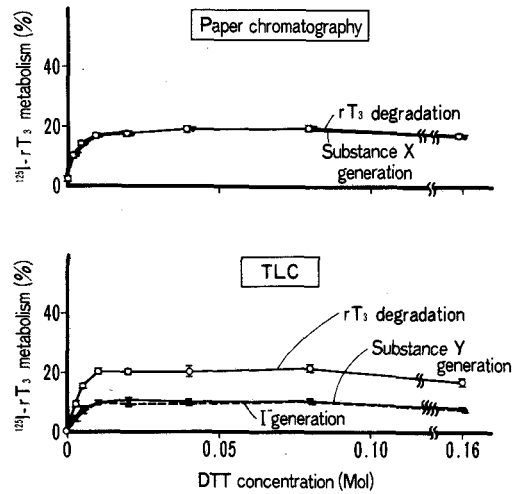


図7 Effect of DTT concentration on metabolism of rT_3 in chorionic villi Comparison of paper chromatography and TLC

初期絨毛を用いて、pH 7.4, DTT 20mM の条件で、incubation 時間は15, 30, 60, 120, 180分の5系列で検討した。

$T_4 \rightarrow rT_3$ の代謝は、incubation 15分ですみやかに起こり、30分で T_4 は95%以上代謝され、以後プラトーとなった ($p < 0.05$)。さらに、incubation 時間に依存して、生成された rT_3 の代謝が進行した ($p < 0.05$)。

T_3 は、incubation 15分で100%近く代謝され、 3 - T_1 がほぼ100%生成された。 $3,3$ - T_2 の生成率は極めて低く、ほとんど検出できなかったことから、

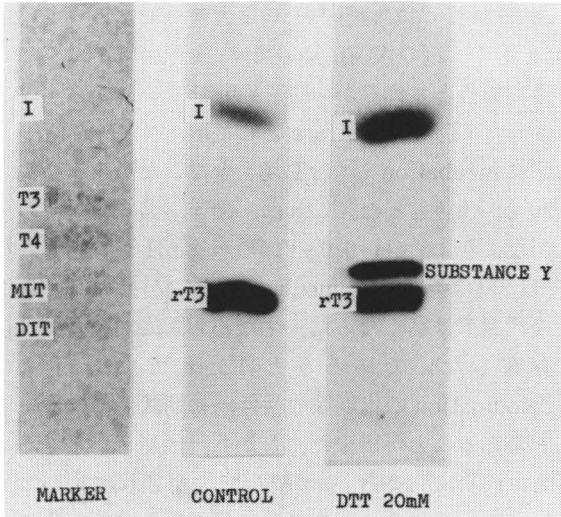


写真2 Autoradiographic thin layer chromatogram showing metabolites of ¹²⁵I-rT₃ after incubation with homogenate of chorionic villi

T₃→3,3'-T₂→3'-T₁の代謝は非常に迅速であると考えられる。

rT₃代謝も incubation 時間に依存したが、T₄およびT₃に比較すると、代謝率が明らかに低かった。

4. TLC による rT₃代謝の分析 (図7)

同一サンプル(初期絨毛を用いて DTT 濃度変化をみたもの)を用い、PCで同定できなかった substance X について TLC による分離精製を試みた。

PCでは autoradiography によって、rT₃とIあるいは3',5'-T₂ positionの2カ所に¹²⁵I-compoundsが同定されたが、TLCでは、rT₃とIの2カ所の他に、第3の positionに¹²⁵I-compound (substance Yとする)が認められた(写真2)しかも、Iと substance Yの生成率は等しく、I(%) = substance Y (%) = 1/2 substance X (%)の関係が成立した。Substance Yについては、chromatogram上の移動状態から3', 5'-T₂と推測されたが、標準品の入手が不可能なため、同定するに至らなかった。

5. 成熟胎盤と初期絨毛との比較 (図8)

妊娠40週、自然分娩によって得られた胎盤3個を用い、T₄、T₃、rT₃の代謝を初期絨毛と同一の系

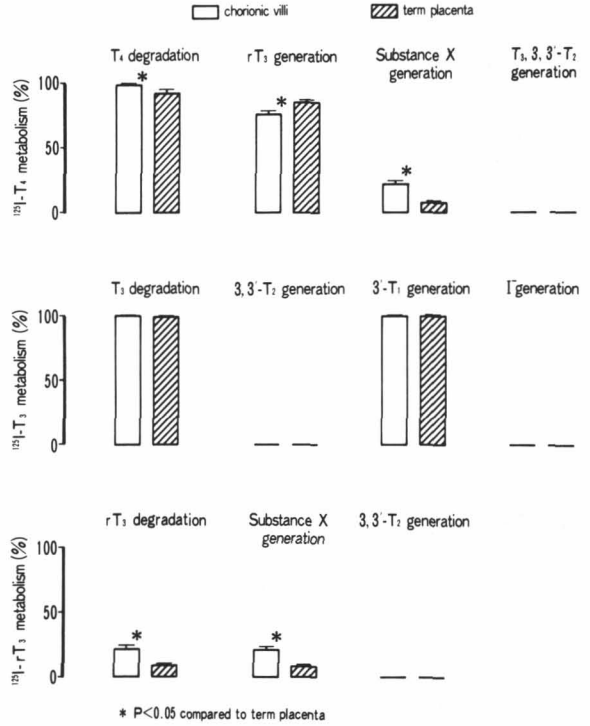


図8 Comparison of thyroid hormone metabolism between chorionic villi and term placenta

を用いて検討した。なお、DTT 20mM, pH 7.4, incubation 60分の条件下で行なった。

T₃代謝では、代謝経路、代謝率共に成熟胎盤と初期絨毛の間に有意差はなかった(p < 0.05)。

T₄およびrT₃の代謝も成熟胎盤と初期絨毛の間で代謝経路に差はなかったが、代謝率は初期絨毛の方が有意に高かった(p < 0.05)。尚、初期絨毛と胎盤ホモジネートのタンパク濃度に差はみられなかった。

考 察

甲状腺ホルモンの末梢代謝は1970年 Braverman¹⁹⁾の報告以来、ヒトおよび実験動物で、肝²⁰⁾²¹⁾、腎²²⁾、心²³⁾、脳²⁴⁾²⁵⁾、下垂体¹⁶⁾²⁶⁾²⁷⁾、顆粒球²⁸⁾などでの実態が明らかにされつつある。強い生物活性をもつ血中T₃は、その約20%が甲状腺より生成され、約80%は末梢組織でT₄の outer ring (phenolic ring, β-ring) の脱ヨード反応(5'-deiodination)によって、生成される²⁹⁾³⁰⁾ため、T₄はホルモン作用を持たない prohormone³¹⁾³²⁾であ

るとする説も提唱されている。また、生物活性をもたない rT_3 は末梢組織で T_4 の inner ring (tyrosyl ring, α -ring) の脱ヨード反応 (5-deiodination) によって、95%以上が生成される³³⁾といわれている。

最近、胎盤における甲状腺ホルモン代謝が明らかにされつつあるが、ヒト成熟胎盤の甲状腺ホルモン代謝に関して、Banovacら³⁴⁾およびRotiら¹⁰⁾は異なった結果を報告している。前者は $T_4 \rightarrow T_3$ と $T_4 \rightarrow rT_3$ の2つの経路があり、 T_3 の生成率が rT_3 のそれよりもはるかに高いとしており、後者は、 $T_4 \rightarrow T_3$ の系は存在せず、 $T_4 \rightarrow rT_3$ のみの代謝が活性であるというものである。その後、ヒトおよび実験動物の胎盤での研究¹¹⁾¹²⁾が進み、後者の説にはほぼ一致した知見が得られている。すなわち、ヒト成熟胎盤では、 $T_4 \rightarrow rT_3$ 、 $T_3 \rightarrow 3,3',5'-T_2 \rightarrow 3',5'-T_2$ への inner ring の脱ヨード反応による代謝がおきており、これらが酵素反応であること、従って、至適 pH をもち、低温および熱処理によって代謝がおこらないこと、および SH 基保護剤である DTT を加えないと反応がおきないことなどが明らかにされている。

今回の実験でも、妊娠初期のヒト絨毛における甲状腺ホルモン代謝は、成熟胎盤のそれとほとんど同様の代謝系路が確認された。すなわち、 $T_4 \rightarrow rT_3$ 、 $T_3 \rightarrow 3,3',5'-T_2 \rightarrow 3',5'-T_2$ への inner ring の脱ヨード反応がおきているということである。

初期絨毛での甲状腺ホルモン代謝が、成熟胎盤のそれと異なる点は、大きく分けて次の2つである。1) 初期絨毛の方が代謝が速いこと。2) ヒト成熟胎盤では、 T_4 から生成された rT_3 は最終代謝産物であり、それ以上代謝されない¹⁰⁾と一般的にはされている(一部 rT_3 代謝が考えられる¹²⁾という報告もある)が、初期絨毛では、生成された rT_3 がさらに代謝されていることである。1)の代謝率については、Rotiら¹⁰⁾の報告によると、成熟胎盤では、DTT 6.7mM, incubation 120分間, pH 7.4で、 T_4 は56%代謝され、 T_3 は96%代謝されるという。今回の初期絨毛での検討では、DTT 6.7mM, incubation 60分間, pH 7.4で、 T_3 の代謝率は98%と成熟胎盤のそれと差はなかったものの、 T_4 の代

謝率は約96%で胎盤のそれを大きく上まわっていた。2)の rT_3 の代謝については、成熟胎盤では不活性であるとされるが、初期絨毛では、 T_4 から生成された rT_3 も、substrateとしてホモジネートと一緒に incubation した rT_3 も、少ないながらその約20%が代謝された。これは、図4、図6でも明らかのように、pH 6.0~7.5の至適 pH が存在し、pH 7.4の条件では、incubation 時間が長い程、 rT_3 の代謝率は高くなった。すなわち、成熟胎盤では存在しないであろうと言われている rT_3 の deiodination の代謝系の活性が初期絨毛にはあると考えることが出来た。しかし、代謝率から見ると、 rT_3 が T_4 や T_3 に比較して代謝されにくいことは明らかであり、この系の代謝活性は低いものと考えられる。本実験では、この代謝系の存在をさらに明確にするため、初期絨毛を用いたのと同じ条件下で、成熟胎盤を用いて追加実験を行ない、上記1) 2)について検討した。図8のごとく、 T_3 代謝に関しては、初期絨毛、胎盤に差はなかったが、 T_4 代謝率、 rT_3 代謝率は胎盤の方が有意に低く($p < 0.05$)、 rT_3 代謝率も10%以下であった。すなわち、 rT_3 の代謝は胎盤においても存在するが、初期絨毛との間に明確な差のあることが証明された。

次に、初期絨毛における rT_3 の代謝経路について考察する。すべての実験系列において、 rT_3 は代謝され、PC上Iあるいは $3',5'-T_2$ の position に出現する物質 (substance X) が生成された。ラットの成熟胎盤を用いた実験¹¹⁾では、 rT_3 はわずかに代謝されて(0~6.2%)、生成された物質は $3',5'-T_2$ であろう(3-deiodination)とする報告がみられるので、本実験では、substance X がIであるのか、 $3',5'-T_2$ であるのか、又はその両方であるのかを検討するために、TLCを用いて代謝産物を分離した。結果は図8のごとくで、 rT_3 の代謝率はPCとTLCで等しく、TLCでは2種類の代謝産物が1対1の割合で生成されており、この和はsubstance Xの生成率に等しかった。又、TLC上で生成された物質の一方はIであった。しかし、もう一方の生成物(substance Y)は、chromatogram上からは rT_3 から脱ヨードされた $3',5'-T_2$ の可能

性が高いと考えたいが、 rT_3 から $3,5'$ - T_2 への代謝は、inner ringの脱ヨード反応であるため、 ^{125}I が生成された結果とは矛盾する。一方、 ^{125}I の生成はouter ringの脱ヨード反応によって生じるが、その結果生成されるはずの $3,3'$ - T_2 は認められなかった。また、一旦生成された $3,5'$ - T_2 あるいは $3,3'$ - T_2 がさらに代謝されて、 $3'$ - T_1 と I^- が生成される可能性も、 $3'$ - T_1 がPC上もTLC上も存在しないことで否定される。従って、 rT_3 の代謝経路は、場合によっては脱ヨード反応以外の何らかの経路、例えばエーテル結合の切断など³⁰⁾による可能性も考慮する必要がある、今後の解明に待つべきである。

胎盤における代謝は、その組織学的構築によって代謝活性が異なることが知られており、胎盤通過に対する律速因子と考えられている。そこで、胎盤の構成要素ではあるが、絨毛と異なり子宮内膜に由来する脱落膜について甲状腺ホルモン代謝への関連性を検討した。脱落膜は、試料の光顕レベルの検討では、絨毛のわずかな混入を認めたが、代謝率から見て、 T_4 および rT_3 の代謝はほとんどおきていないと考えられた。しかし、同一条件下で、 T_3 のincubationでは $3,3'$ - T_2 が生成され、 T_3 から $3,3'$ - T_2 への代謝(5-deiodination)がおきていると考えられた。また、脱落膜では、 T_4 代謝、 rT_3 代謝がほとんどおきていないこと、 T_3 代謝で、絨毛と異なり $3'$ - T_1 がほとんど生成されず、 $3,3'$ - T_2 が著明に生成される事実から、絨毛の影響は無視することができる。すなわち、脱落膜には、 T_4 と rT_3 の脱ヨード酵素はほとんど存在しないが、 T_3 から $3,3'$ - T_2 への5-deiodinaseは存在するものと考えられる。また、 T_4 から rT_3 、ならびに T_3 から $3,3'$ - T_2 へは、共に5-deiodinaseにより代謝されるが、最近のラット下垂体での代謝系の報告²⁷⁾からみると、脱落膜においてもこの2つの代謝は異なった酵素の存在による可能性もあろう。

胎児の発育過程の中で、甲状腺ホルモンは脳の分化発育に必要であるが、胎児は妊娠環境などによる胎内の代謝の異常亢進からあくまで守らなければならない。妊娠中期以降の甲状腺系の胎児の独立性はその意味で誠に合目的であるが、その時

期以前のこうした胎児適応はこれまで不明であった。本研究の成果は、その生化学的仕組みの一つを解明したことにあつたと思われる。なお、本実験は、特に代謝性疾患の合併のない妊娠例より材料を得たが、甲状腺疾患、糖尿病合併例などでは流早死産がおこりやすく³⁵⁾³⁶⁾、これらについては、胎盤系の甲状腺ホルモン代謝異常が関与する可能性も考えられるので、本実験結果をもとに、今後、妊娠の代謝性異常に対する病態生化学的解明に研究を進展させるべきであろう。

結 語

妊娠初期のヒト絨毛、脱落膜ホモジネートを用いて、in vitroで甲状腺ホルモン代謝の実験を行ない、以下の結果を得た。

- 1) ヒト初期絨毛では、成熟胎盤同様、 $T_4 \rightarrow rT_3$ 、 $T_3 \rightarrow 3,3'$ - $T_2 \rightarrow 3'$ - T_1 の脱ヨード反応がすみやかにおきており、 $T_4 \rightarrow T_3$ への反応はみられなかった。
- 2) これらの反応は、incubation時間、pHに依存し、DTT非添加ではわずかしか反応がみられなかった。
- 3) ヒト成熟胎盤では脱ヨード反応がおきないと考えられていた rT_3 は、成熟胎盤でもわずかながら代謝されること、および初期絨毛において、著明に代謝されることが判明した。
- 4) 脱落膜において、 T_4 、 rT_3 代謝はほとんど認めなかったが、 T_3 代謝は認められたことから、強い生物活性を持つ T_3 のみは、絨毛と一致して、崩壊させる方向へと働くことが推測された。
- 5) 胎盤完成前においても、 T_4 、 T_3 の母体から胎児への通過阻止機構が働いている可能性が明らかになり、胎児下垂体—甲状腺系が未熟な時期においても、胎児代謝(Low T_3 , High rT_3)に合致した代謝調節を胎盤が行なっていることが推測された。

稿を終えるにあたり、御校閲を賜わった武田佳彦教授、坂元正一教授、直接御指導いただいた内分泌外科、前田美智子先生、御助言をいただいた薬理学教室、野本照子教授、塚原富士子先生、教室の吉田茂子教授ならびに産婦人科教室、母子総合医療センターの皆様へ深謝いたします。

なお、本論文の要旨は、第37回日本産科婦人科学会
 学術講演会において発表した。

文 献

- 1) **Chopra, K.J., Sack, J. and Fisher, D.A.:** Circulating 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T3) in the human newborn. *J Clin Invest* 55(6) 1137~1141 (1975)
- 2) **Fisher, D.A., Dussault, J.H., Hobel, C.J. and Lan, R.:** Serum and thyroid gland triiodothyronine in the human fetus. *J Clin Endocrinol metab* 36 397~401 (1973)
- 3) 木村孔右: 妊娠母体・胎児・新生児における甲状腺機能の研究. *日産婦誌* 30(11) 1385~1394 (1978)
- 4) **Wu, S.Y., Klien, A.H., Chopra, I.J. and Fisher, D.A.:** Alterations in tissue thyroxine 5'-monodeiodinating activity in the perinatal period. *Endocrinology* 103 235 (1978)
- 5) 杉本充弘: 胎児(仔)における甲状腺ホルモン末梢代謝の特徴. *日産婦誌* 35(12) 2321~2329 (1983)
- 6) 坂元正一・中井利昭: 胎児内分泌学. 永井書店 大阪 (1977) 57~108
- 7) **Raiti, S., Holzman, G.B., Scott, R.L. and Blizzard, R.M.:** Evidence for placental transfer of triiodothyronine in human beings. *New Eng J Med* 277 456 (1976)
- 8) **Fisher, D.A., Dussault, J.H., Sack, J. and Chopra, I.J.:** Ontogenesis of hypothalamic-pituitary-thyroid function and metabolism in man, sheep and rat. *Recent Prog Horm Res* 33 59 (1977)
- 9) **Dussault, J.H. and Coulombe, P.:** Minimal placental transfer of L-thyroxine (T4) in the rat. *Pediat Res* 14(3) 228~231 (1980)
- 10) **Roti, E., Fang, S.L., Green, K., Emerson, C. H. and Braverman, L.E.:** Human placenta is an active site of thyroxine and 3,3',5'-triiodothyronine tyrosyl ring deiodination. *J Clin Endocrinol Metab* 53(3) 498~501 (1981)
- 11) **Roti, E., Fang, S.L., Braverman, L.E. and Emerson, C.H.:** Rat placenta is an active site of inner ring deiodination of thyroxine and 3,3',5'-triiodothyronine. *Endocrinology* 110(1) 34~37 (1982)
- 12) 鈴木道子・ほか: ヒト胎盤における甲状腺ホルモンの脱ヨード反応. *日内分泌会誌* 58(10) 1367~1378 (1982)
- 13) **Riddick, D.H. and Kusmik, W.F.:** Decidua: A possible source of amniotic fluid prolactin. *Am J Obstet Gynecol* 127(2) 187~190 (1977)
- 14) **Demura, R., Odagiri, E., Yoshimura, M., Jibiki, K., Adachi, T., Shirota, M., Demura, H., Shizume, K. and Oouchi, H.:** Placental secretion of prolactin, ACTH and immunoreactive β -endorphin during pregnancy. *Acta Endocrinol* 100(1) 114~119 (1982)
- 15) 安永洗彦: ヒト妊娠・分娩時における Prostaglandins(PG)の動態と関与に関する研究—血中, 羊水中, 尿中の PGF_{2 α} 代謝物の変動および子宮筋, 羊膜, 脱落膜における PGE, F 産生動態—. *日産婦誌* 33(1) 1~10 (1981)
- 16) **Maeda, M. and Ingbar, S.H.:** Effect of alterations in thyroid status on the metabolism of thyroxine and triiodothyronine by rat pituitary gland in vitro. *J Clin Invest* 69(4) 799~808 (1982)
- 17) **Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.:** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 265~275 (1951)
- 18) **Steel, R.G.D. and Torrie, J.H.:** Principles and procedures of statistics a biometrical approach. Second Edition McGraw-Hill Book Company, New York (1980) 187~188
- 19) **Braverman, L.E., Ingbar, S.H. and Sterling, K.:** Conversion of thyroxine (T4) to triiodothyronine (T3) in athyreotic human subjects. *J Clin Invest* 49 855~864 (1970)
- 20) **Visser, T.J., I. vander Dose-Tobé, Docter, R. and Henneman, G.:** Conversion of thyroxine into triiodothyronine by rat liver homogenate. *Biochem J* 150 489~493 (1975)
- 21) **Cavaliere, R.R., Gavin, L.A., Bui, F., McMahon, F. and Hammond, M.:** Conversion of thyroxine to 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T3) by a soluble enzyme system of rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 79 897~902 (1977)
- 22) **Chiraseveenuprond, P., Buergi, U., Guswami, A. and Rosenberg, I.N.:** Conversion of L-thyroxine to triiodothyronine in rat kidney homogenate. *Endocrinology* 102(2) 612~622 (1978)
- 23) **Rabinowitz, J.L. and Hercher, E.S.:** Thyroxine: Conversion to triiodothyronine by isolated perfused rat heart. *Science* 173 1242~1243 (1971)
- 24) **Dratman, M.B. and Crutchfield, F.L.:** Synaptosomal ¹²⁵I triiodothyronine after intravenous ¹²⁵I thyroxine. *Am J Physiol* 235 E638~647 (1978)
- 25) **Kaplan, M.M. and Yaskoski, K.A.:** Phenolic

- and tyrosyl ring deiodination of iodothyronines in rat brain homogenates. *J Clin Invest* 66(3) 551~562 (1980)
- 26) **Silva, J. and Larsen, P.R. :** Pituitary nuclear 3,5,3'-triiodothyronine and thyrotropin secretion: An explanation for the effect of thyroxine. *Science* 198(11) 617~620 (1977)
- 27) **Maeda, M. and Ingbar, S.H. :** Evidence that the 5'-monodeiodinases for thyroxine and 3,3', 5'-triiodothyronine in the rat pituitary are separate enzymes. *Endocrinology* 114(3) 747~752 (1984)
- 28) **Woeber, K.A. :** L-Triiodothyronine and L-reverse triiodothyronine generation in human polymorphonuclear leukocyte. *J Clin Invest* 62(3) 577~584 (1978)
- 29) 佐藤 晃・山田隆司・稲田満夫：ホルモンと臨床。夏季増刊号，28 (1980) 121~136
- 30) 前田美智子：甲状腺ホルモンの脱ヨードカスケード。代謝 21(5) 242~244 (1984)
- 31) **Oppenheimer, J.H., Schwartz, H.L. and Surks, M.I. :** Propylthiouracil inhibits the conversion of L-thyroxine to L-triiodothyronine. *J Clin Invest* 51(9) 2493~2497 (1972)
- 32) **Ingbar, S.H. and Braverman, L.E. :** Active form of the thyroid hormone. *Annu Rev Med* 26 443~449 (1975)
- 33) **Tulchinsky, D. and Ryan, K.J. :** Maternal-fetal Endocrinology. W.B. Saunders Company Philadelphia (1980) 281~293
- 34) **Banovac, K., Bzik, L.J., Tisljaric, D. and Sekso, M. :** Conversion of thyroxine to triiodothyronine and reverse triiodothyronine in human placenta and fetal membranes. *Hormone Res* 12(5) 253~259 (1980)
- 35) 安達知子・ほか：妊娠と甲状腺機能異常。周産期医学 臨時増刊号特集号，11(12) 72~75 (1981)
- 36) 大森安恵：糖尿病合併妊婦の対策。産婦世界 32(1) 50~53 (1980)